Beitrag zur Kenntnis der Morphologie und Biologie der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät zu Rostock

vorgelegt von

Witold v. Przewoski,
Medizinalpraktikant am Hygienischen Institut zu Rostock,
z. Zt. Bromberg, Diakonissenkrankenhaus.

Jena,
Gustav Fischer
1912.

Beitrag zur Kenntnis der Morphologie und Biologie der Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät zu Rostock

vorgelegt von

Witold v. Przewoski,
Medizinalpraktikant am Hygienischen Institut zu Rostock,
z. Zt. Bromberg, Diakonissenkrankenhaus.

ACAD. LUGD. BAT. BIBL.

Jena,
Gustav Fischer
1912.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät zu Rostock.
Referent: Prof. Pfeiffer.

Sonderabdruck aus dem
Centralblatt f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 65.

Seinen lieben Eltern

gewidmet vom Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553620_0123

Als nach der Entdeckung des Diphtheriebacillus durch Loeffler andere Forscher die genauere Untersuchung dieses Krankheitserregers in Angriff nahmen, wurden sich häufig einander widersprechende Urteile über seine Stellung zu verwandten Bakterien laut.

Durchmustert man die Fachliteratur dieser Zeit, so begegnet man voneinander sehr abweichenden Ansichten. In Anbetracht der großen Zahl der Publikationen will ich jedoch nur auf diejenigen, welche in den wichtigsten Fragen differierten, kurz eingehen. Während Klein im Jahre 1890 (1) zuerst über eine eigentümliche Abweichung in der Wachstumform, nämlich die Bildung von echten Verzweigungen der Diphtheriebacillen berichtete, was auch unter anderen Fraenkel (2) bestätigte, wurde zuerst von Leo Zupnik (3) sieben Jahre später die Einheitlichkeit des Bacillus direkt in Frage gestellt. Dieser Forscher vertritt weder den Standpunkt Loefflers (4) und Escherichs (5), welche die echten und falschen Diphtheriebacillen als verschiedene Arten auffaßten, noch den von Fraenkel und Hueppe, welche sie nur als Varietäten derselben Art ansahen. Zupnik unterschied eine Gruppe der Pseudo- und eine solche der Loefflerschen Diphtheriebacillen. Erstere stellten einen Sammelbegriff artlich heterogener Mikroorganismen dar, die für Meerschweinchen pathogen seien, eine Ansicht, die auch Flügge und Neisser vertraten, von letzteren unterschied er zwei Arten, deren eine sich nach Gram färbe, ohne Eigenbewegung und für Meerschweinchen vollvirulent sei, deren zweite gramnegativ sei, langsame Eigenbewegung zeige und beim Meerschweinchen niemals tödliche Erkrankung hervorrufe. Auch mikroskopisch und kulturell sollten sie sich unterscheiden; bei einigen Stämmen wurde gelbes Wachstum beobachtet. Er kam zu dem Resultat, daß „die Loefflerschen Bacillen ein Sammelbegriff verschiedener, vielleicht zu derselben Familie gehörender Arten seien".

Noch in demselben Jahre erschien eine Arbeit von Fraenkel, welche die bisherige Unterscheidung der echten und falschen Diphtheriebacillen als höchst fragwürdig hinstellte. Eine Trennung dieser Arten auf mikroskopischem Wege sei unmöglich; auch das kulturelle Verhalten gebe keine sicheren Anhaltspunkte für die Differenzierung. Er bestätigte dabei die Beobachtung Zupniks, daß nicht nur die falschen, sondern auch echte Diphtheriebacillen auf Blutserum gelben Farbstoff bildeten, letztere allerdings erst nach einigen Tagen.

Nun hatten im Jahre 1894 Roux und Yersin (6) und Zarniko (7) auf einem anderen Wege versucht, eine Unterscheidung der echten und falschen Diphtheriebacillen zu ermöglichen, und zwar dadurch, daß sie die Reaktion der Kulturen in Peptonfleischbrühe als Maßstab wählten. Nach ihren Untersuchungen sollten die echten Diphtheriebacillen nur saure, die falschen nur alkalische Stoffwechselprodukte bilden. Im Gegensatz dazu behauptete Fraenkel, daß nicht selten auch Pseudodiphtheriebacillen kein Alkali, sondern gewisse Mengen Säure bilden, die den Farbenumschlag in einer mit Lackmus versetzten Bouillon herbeiführen. Trotzdem könnte man aber die Säurebildung zur Differenzierung verwerten, wenn die Quantität der gebildeten Säure, bestimmt durch Titration, berücksichtigt würde. Nebst Fraenkel bestätigten dann noch Escherich, Peters und Neisser, daß echte Diphtheriebacillen stets mehr Säure bilden als die sauersten Pseudodiphtheriebacillen.

Das wichtigste Unterscheidungsmerkmal, der Ausfall des Tierversuchs, könnte ebenfalls nicht als entscheidend gelten, da die Virulenz der echten Diphtheriebacillen sehr wechsele (Brieger und Fraenkel, Roux und Yersin). Peters

sah selbst nach Injektion von für Menschen avirulenten Kulturen die Versuchstiere regelmäßig eingehen, die Sektion habe nur zuweilen Zeichen einer hämorrhagischen Peritonitis ergeben.

Was die Säurebildung der Diphtheriebacillen anbetrifft, so hatte Spronck (8) 1895 über zwei verschiedene Typen berichtet. Bei dem einen blieb die Kultur dauernd sauer, bei dem anderen trat von Anfang an bei längerem Wachstum eine zunehmende Alkaleszenz ein. Diesen Befund bestätigten van Turenhout (9) und Cobbett (10), nicht dagegen Madsen (11). Nach Kolle-Wassermann (12) tritt nur im alkalischen Stadium der Kulturen Toxinbildung ein, die Säurebildung entspreche der Zersetzung des Zuckers im Nährboden, die Alkalibildung dem Wachstum der Kultur. Nach Slawyk und Manicatide (13) ist die Reaktion der Kultur weder zur Trennung der Stämme noch zur Unterscheidung der echten Diphtheriebacillen von den falschen brauchbar, sie hänge ganz von dem Zuckergehalte der Bouillon ab und durchlaufe mit der Zeit alle Phasen; sowohl echte wie Pseudodiphtheriebacillen-Kulturen reagierten nach 24 Stunden fast immer neutral, dann sauer und nach 7—12 Tagen alkalisch.

Bezüglich der Agglutination bestehen unter den Forschern ebenfalls die verschiedensten Ansichten, ich verweise nur auf die Arbeiten von Lubowski (14), Lipstein (15) und Schwooner (16). Lipstein immunisierte Kaninchen mit steigenden Dosen von Diphtheriebacillen unter Hinzufügung von antitoxischem Serum; er erhielt also ein toxinfreies, nur gegen die Bacillenleiber gerichtetes Immunserum (ebenso Wassermann [17]). Schwooner benutzte ein polyvalentes Serum von einem Pferd, das mit 12 verschiedenen Stämmen immunisiert war. Sein, sowie Lubowskis Serum agglutinierte alle Diphtheriebacillen noch in einer Verdünnung von 1:1000, nicht aber Pseudodiphtheriebacillen. Lipstein dagegen konstatierte, daß ein mit einem bestimmten Stamm gewonnenes Immunserum am stärksten auf diesen selbst einwirkt, auf andere aber viel schwächer. Er erklärt diese Tatsache damit, daß bei allen Stämmen gewisse Grundrezeptoren zu finden seien, jeder einzelne Stamm habe Partialrezeptoren, die untereinander Verschiedenheiten aufwiesen. Die Art der Immunisierung spiele, wie man sieht, die größte Rolle.

In Anbetracht so verschiedener Ergebnisse und Ansichten, die bis auf den heutigen Tag noch nicht völlig geklärt sind und aus dem Grunde, daß in der hiesigen bakteriologischen Abteilung des hygienischen Institutes immer wieder Verschiedenheiten der Diphtheriebacillen sowohl kultureller wie auch mikroskopischer Art konstatiert wurden, schlug mir Herr Prof. Pfeiffer vor, unter Anleitung des Privatdozenten und Stabsarztes Dr. Riemer mit einem möglichst großen Material eine Untersuchung der echten und falschen Diphtheriebacillen vorzunehmen. Da es jedoch zu weit geführt hätte, auf alle oben angeführten Verschiedenheiten genau einzugehen, so beschränkte ich mich darauf, durch meine Untersuchungen festzustellen, inwieweit Unterschiede mikroskopischer und kultureller Art unter den echten und falschen Diphtheriestämmen vorkämen und wie sie sich im Tierversuch, bei der Agglutinationsprüfung und bei Anwendung der Komplementbindung zueinander verhielten. Ich verwandte Kulturen, die von den zur Feststellung der Diagnose eingesandten Rachenwischern auf Loeffler-Serum gewonnen waren, isoliert und rein fortgezüchtet wurden. Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, kamen sowohl Diphtheriestämme, die von frischen Erkrankungen herrührten, als auch solche, die von Bacillenträgern gewonnen waren, zur Untersuchung. Genaue Krankheitsgeschichten standen mir leider nicht zur Verfügung. Bei dem großen Material, das hier täglich zur Untersuchung auf Diphtherie einläuft, gelang es mir in $2^1/_2$ Monaten 55 Diphtheriebacillenstämme verschiedener Herkunft zu isolieren und rein fortzuzüchten, fünf davon erwiesen sich als Pseudodiphtherie.

Tabelle A gibt einen Ueberblick über Ursprung, Wachstum auf Loeffler-Serum gleich nach Entnahme aus dem Rachen und Färbbarkeit der verschiedenen Kulturen mit Loefflers Methylenblau und

Tabelle A.

Stämme	Tgb.-No.	Ursprung[1])	Reinkultur gewonnen am	Makroskopisches Wachstum auf Loefflerschem Serum	Mikroskopisches Aussehen bei Färbung mit Loefflers Methylenblau nach 24 Stunden	Annahme der Neisserschen Doppelfärbung	Gramsche Färbung
1	8948	Hans J[illegible] Bacillenträger, Mandelabstrich eingegangen am 17. 7. 11	27. 7. 11	kleine, runde, erhabene Kolonieen v. zitronengelber Farbe	deutlich segmentierte kürzere und längere Stäbchen, in wirren Haufen u. palisadenförmig liegend, reichliche Involutionsformen	sehr deutlich und gleichmäßig	positiv
2	8944	Füsilier C[illegible] M. eingeg. am 17. 7.	21. 7.	grauweiß glänzend	wie Stamm 1	deutlich	positiv
3	8812	Füsilier H[illegible] M. eingeg. am 15. 7.	24. 7.	sehr zarte, grauweiße Kolonieen	wenig Involutionsformen, schlanke, gut segmentierte Stäbch.	gleichmäßig stark	positiv
4	9008	Anna H[illegible] Bacillenträgerin, M. eingeg. am 18. 7.	21. 7.	dunkelgelbe Kolonieen	wie Stamm 1	deutlich	positiv
5	9076	Füsilier U[illegible], 22 Jahre alt, M. eingeg. am 20. 7. (in 3 Tagen tödlich verlaufener Fall von Diphtherie)	25. 7.	grauweiße, zum Teil sehr große, wenig glänzende Kolonieen	schon nach 20-stündig. Verweilen im Brutschrank lauter ganz ungewöhnlich dicke Keulenformen, deutl. segmentiert	gleichmäßig stark	positiv
6	9401	Martha v. W[illegible] 16 Jahre alt, M. eingeg. am 25. 7.	15. 8.	grauweiß glänzend	lauter Involutionsformen, die Keulen aber schwächer wie bei Stamm 5	gleichmäßig stark	positiv
7	9407	Erwin C[illegible] 13 Jahre alt, aus der Ferienkolonie Berlin, M. eingeg. am 25. 7.	15. 8.	gelblich glänzend	schön segment. lange und kurze Stäbchen, wenige Involutionsformen	deutlich	positiv
8	9684	Ernst B[illegible], 22 Jahre alter Diener, M. eingeg. am 29. 7.	2. 8.	grauweiß glänzend	wie Stamm 7, keine Involutionsformen	nicht gleichmäßig	positiv
9	9980	Frau B[illegible], M. eingeg. am 3. 8.	5. 8.	tiefgelber Farbenton	lauter Involutionsformen	nicht bei allen Individuen	positiv

1) Wo die Bemerkung „Bacillenträger“ fehlt, handelt es sich stets um frische Erkrankungsfälle.

Stämme	Tgb.-No.	Ursprung	Reinkultur gewonnen am	Makroskopisches Wachstum auf Loefflerschem Serum	Mikroskopisches Aussehen bei Färbung mit Loefflers Methylenblau nach 24 Stunden	Annahme der Neisserschen Doppelfärbung	Gramsche Färbung
10	9 931	Hans P[redacted] 9 Jahre alt, Bacillenträger, M. eingeg. am 2. 8.	5. 8.	große, erhabene, gelbe Kolonieen	kurze, plumpe, nicht segmentierte und längere segmentierte Stäbchen	gleichmäßig stark	positiv
11	10 107	Füsilier Wilhelm L[redacted] M. eingeg. am 6. 8.	12. 8.	grauweiß glänzend	wie Stamm 6	gleichmäßig stark	positiv
12	10 110	Fritz R[redacted] 11 Jahre alt, M. eingeg. am 6. 8.	12. 8.	zarte, gelb glänzende Kolonieen	wie Stamm 7	gleichmäßig stark	positiv
13	10 026	Kanonier B[redacted] 19 Jahre alt, M. eingeg. am 4. 8.	6. 8.	dunkelgelb glänzende Kolonieen	zarte, schlanke Stäbchen, keine Involutionsformen	gleichmäßig stark	positiv
14	?	Kanonier P[redacted] 19 Jahre alt, M. eingeg. am 4. 8.	9. 8.	gelblich glänzend	Stäbchen dicker wie bei Stamm 13, reichlich Involutionsformen	gleichmäßig stark	positiv
15	10 127	Frieda B[redacted] 11 Jahre alt, M. eingeg. am 7. 8.	10. 8.	grauweiß glänzend	lange, schlanke, deutlich segmentierte Stäbchen, auch Keulenformen	gleichmäßig stark	positiv
16		Füsilier W[redacted] M. eingeg. am 7. 8.	9. 8.	grauweiße, sehr zarte und kleine Kolonieen	wie Stamm 14	gleichmäßig stark	positiv
17		Wilhelm P[redacted] $4^1/_2$ Jahre alt, M. eingeg. am 7. 8.	12. 8.	grauweiß glänzend	lange segmentierte Stäbchen, zum Teil Involutionsformen	nicht gleichmäßig	positiv
18		Elisabeth F[redacted], $4^1/_2$ Jahre altes Kind, M. eingeg. am 7. 8.	12. 8.	zarte, grauweiße Kolonieen	schlanke, gut segmentierte Stäbchen, wenig Involutionsformen	gleichmäßig stark	positiv
19		Hans G[redacted] 4 Jahre alt, M. eingeg. am 8. 8.	15. 8.	grauweiß	Stäbchen noch zarter wie die von Stamm 18, keine Involutionsformen	nicht bei allen Individuen	positiv
20	10 473	Hans K[redacted] 9 Jahre alt, M. eingeg. am 15. 8.	21. 8. Zwei verschiedene Arten von Kolonieen	a) große, gelbe Kolonieen	a) kurze, plumpe, wenig deutlich segmentierte Stäbchen	a) sehr spärlich	positiv
				b) kleinere, grauweiße Kolonieen	b) längere, gut segmentierte Stäbchen, auch Involutionsformen	b) ziemlich gleichmäßig	positiv

Stämme	Tgb.-No.	Ursprung	Reinkultur gewonnen am	Makroskopisches Wachstum auf Loefflerschem Serum	Mikroskopisches Aussehen bei Färbung mit Loefflers Methylenblau nach 24 Stunden	Annahme der Neisserschen Doppelfärbung	Gramsche Färbung
21	10 475	K[redacted] M. eingeg. am 15. 8.	21. 8.	grauweiß glänzend	Segmentierung nicht bei allen Individuen	nicht gleichmäßig	positiv
22	10 489	Anna H[redacted], 20 Jahre alt, M. eingeg. am 16. 8.	22. 8.	grauweiß glänzend	lange, sehr deutlich segmentierte Keulenformen	gleichmäßig	positiv
23	10 471	A[redacted] 9 Jahre altes Kind, M. eingeg. am 15. 8.	21. 8.	grauweiße Kolonieen	kurze, schmale Stäbchen neben langen Keulenformen	nur bei einzelnen Individuen	positiv
24	10 492	Paul M[redacted], 5 Jahre alt, M. eingegangen am 16. 8.	21. 8.	grauweiß glänzend	deutlich segmentierte Stäbchen, auch Keulenformen	gleichmäßig stark	positiv
25	10 509	Ernst M[redacted], 14 Jahre alt, M. eingeg. am 16. 8.	20. 8.	grauweiß	Stäbchen sehr zart und schmal, wenig Involutionsformen	gleichmäßig stark	positiv
26	10 724	Meta G[redacted] 12 Jahre alt, aus Sternberg, M. eingeg. am 21. 8.	23. 8.	grauweiß	lauter Involutionsformen	nur bei vereinzelten Individuen	positiv
27	10 517	W[redacted] 23 Jahre alt, M. eingeg. am 16. 8.	23. 8.	grauweiß	sehr dicke, lange Keulenformen wie bei Stamm 6	sehr gleichmäßig	positiv
28	10 743	Z[redacted] 22 Jahre alt, abgelaufene Diphtherie, M. eingeg. am 21. 8.	23. 8.	grauweiß	wie Stamm 27, aber die Involutionsformen kürzer	sehr gleichmäßig	positiv
29	10 644	Willi N[redacted] aus dem Kinderheim Bethesda, M. eingeg. am 17. 8.	22. 8.	grauweiß	lange, schlanke, gut segmentierte Stäbchen	nicht regelmäßig	positiv
30	10 696	L[redacted] 19 Jahre alt, aus Röbel, M. eingeg. am 19. 8.	22. 8.	grauweiß	wie Stamm 29	nicht gleichmäßig	positiv
31	10 698	Karl S[redacted] 57 Jahre alt, aus Viesdorf, M. eingeg. am 19. 8.	22. 8.	grauweiß	wie Stamm 30, aber Stäbchen etwas dicker	spärlich	positiv
32	10 695	Anna J[redacted] 14 Jahre alt, aus Preten, M. eingeg. am 19. 8.	22. 8.	grauweiß	kein Unterschied gegen vorher	spärlich	positiv

Stämme	Tgb.-No.	Ursprung	Reinkultur gewonnen am	Makroskopisches Wachstum auf Loefflerschem Serum	Mikroskopisches Aussehen bei Färbung mit Loefflers Methylenblau nach 24 Stunden	Annahme der Neisserschen Doppelfärbung	Gramsche Färbung
33	10 703	Emma B[redacted] Jahre alt, aus Pastow, M. eingeg. am 19. 8.	22. 8.	grauweiß	dünne Stäbchen neben sehr dicken Keulenformen	teilweise fehlend	positiv
34	10 547	Fritz Q[redacted] 17 Jahre alt, M. eingeg. am 18. 8.	24. 8.	grauweiß	kürzere und längere gut segmentierte Stäbchen	gleichmäßig	positiv
35	10 761	Füselier P[redacted], 23 Jahre alt, Rekonvaleszent aus dem Lazarett Wismar, M. eingeg. am 22. 8.	26. 8.	gelb	lauter kurze, schlanke, segmentierte Stäbchen, keine Involutionsformen	spärlich	positiv
36	10 897	Franz S[redacted], Rostock, aus dem Friedrich Franz-Hospiz in Müritz, klinisch gesunder Bacillenträger, M. eingeg. 23. 8.	26. 8.	kleine, erhabene, gelblich glänzende Kolonieen	genau wie Stamm 6	spärlich	positiv
37	10 974	Anna B[redacted] Berlin, aus dem Friedrich Franz-Hospiz in Müritz, Bacillenträgerin, M. eingeg. am 23. 8.	26. 8.	grauweiß	wie vorher	spärlich	positiv
38	10 796	G[redacted], Rekonvaleszent, M. eingeg. am 22. 8.	26. 8.	grauweiß	zarte, lange Stäbchen neben auffallend voluminösen Involutionsformen	gleichmäßig	positiv
39	10 823	Wilhelm J[redacted] 16 Jahre alt, aus Preten, M. eingeg. am 23. 8.	27. 8.	grauweiß	kürzere, plumpe Stäbchen neben langen Involutionsformen	nur bei vereinzelten Individuen	positiv
40	10 854	Hanna S[redacted], 4 Jahre alt, aus dem Krankenhause Wismar, M. eingeg. am 24. 8.	28. 8.	grauweiß	wie vorher	spärlich	positiv
41	10 855	Louise S[redacted], 14 Jahre alt, Schwerin, M. eingeg. am 24. 8.	28. 8.	grauweiß	wie Stamm 6	ganz vereinzelt	positiv
42	10 378	H[redacted], Garnisonlazarett Rostock, M. eingeg. am 12. 8.	16. 8.	grauweiß	wie Stamm 33	gleichmäßig	positiv
43	11 107	Ludwig W[redacted], 16 Jahre alt, Neu-Vorwerk, M. eingeg. am 28. 8.	2. 9.	grauweiß	kurze, schlanke Stäbchen neben langen Involutionsformen	nur teilweise	positiv

Stämme	Tgb.-No.	Ursprung	Reinkultur gewonnen am	Makroskopisches Wachstum auf Loefflerschem Serum	Mikroskopisches Aussehen bei Färbung mit Loefflers Methylenblau nach 24 Stunden	Annahme der Neisserschen Doppelfärbung	Gramsche Färbung
44	11 108	W[redacted], 40 Jahre alt, Arbeiterfrau, M. eingeg. am 28. 8.	2. 9.	grauweiß	lauter gut segmentierte Keulenformen	sehr spärlich	positiv
45	11 215	Paula K[redacted] 5 Jahre alt, M. eingeg. am 28. 8.	2. 9.	grauweiß	lange, segmentierte schlanke Stäbchen	sehr deutlich	positiv
46	11 222	S[redacted], 21 Jahre alt, Diphtherie überstanden, M. eingeg. am 28. 8.	2. 9.	grauweiß glänzend	wie vorher	sehr deutlich	positiv
47	11 256	Wilhelm G[redacted], 5 Jahre alt, aus Güstrow, M. eingeg. am 29. 8.	2. 9.	grauweiß	wie vorher	sehr deutlich	positiv
48	11 260	B[redacted] Schlachtergeselle aus Wismar, 19 Jahre alt, M. eingegangen am 29. 8.	2. 9.	grauweiß	lange, dicke Keulenformen	sehr deutlich	positiv
49	11 302	Karl R[redacted], 9 Jahre alt, Kinderheim Lewenberg, M. eingegangen am 30. 8.	2. 9.	grauweiß	zarte, kurze und lange Stäbchen, spärlich Involutionsformen	nur teilweise	positiv
50	11 386	Ida L[redacted], Tempzin, 3 Jahre alt, M. eingeg. am 1. 9.	3. 9.	grauweiß glänzend	lange, gut segmentierte Stäbchen	gleichmäßig	positiv
51	11 387	Albert W[redacted], Tempzin, 13 J. alt, M. eingeg. am 1. 9.	3. 9.	grauweiß glänzend	wie Stamm 6	sehr deutlich	positiv
11 077	—	Alfred J[redacted], Neu-Strelitz, M. eingeg. wegen Diphtherieverdacht am 7. 9.	12. 9.	grauweiß, üppig wachsend	kurze, segmentierte Stäbchen in wirren Haufen u. palisadenförmig liegend	nur bei vereinzelten Individuen	positiv
11 951	–	Emma M[redacted] Sachsenberg, M. eingeg. am 12. 9. (hatte früher echte Diphtherie gehabt)	14. 9.	wie vorher	Stäbchen noch plumper als vorher	teilweise	positiv
12 094	—	S[redacted] 23 Jahre alt, M. eingeg. am 15. 9.	17. 9.	etwas größere, gelblich glänzende Kolonieen	wie Stamm 11077	gar nicht	positiv
12 006	—	Paula A[redacted] 17 Jahre alt, Dienstmädchen aus Sternberg, M. eingeg. am 13. 9.	17. 9.	grauweiß glänzend	wie vorher, Segmentierung undeutlicher	vereinzelt	positiv

Anmerkung: Die letzten vier Stämme tragen statt der fortlaufenden Nummer die Tagebuchnummer der besseren Uebersicht halber, weil sie sich als Pseudodiphtheriestämme erwiesen.

der Neisserschen Polfärbung. Elf meiner Kulturen zeigten gelbes Wachstum, die zum Teil von frischen Fällen, zum Teil von solchen Bacillenträgern stammten, die nach dem Ueberstehen der Diphtherie noch lange Zeit Diphtheriebacillen in der Mundhöhle beherbergten.

Mikroskopisches Aussehen der einzelnen Stämme auf Blutserum.

Im mikroskopischen Bilde zeigten gegenüber allen übrigen Stämmen die folgenden ein abweichendes Aussehen:

Stamm 5, der von einem sehr schweren Falle herrührte, bildete schon nach 20-stündigem Wachstum im Brutschrank sehr dicke, kräftige Keulenformen, die deutlich segmentiert waren. Sehr ähnlich waren die Stämme 6, 11, 27, 36, 37, 41, 48 und 50. Alle anderen Stämme zeigten nur gerinfügige Formenunterschiede bezüglich der Länge, Dicke und Segmentierung mit Ausnahme der Stämme 20a, 11077, 11951, 12094 und 12006. Diese letzteren lagen zwar auch teils in wirren Haufen, teils palisadenförmig nebeneinander, aber die Stäbchen waren durchweg kürzer und plumper, auch die Segmentierung fehlte oder war spärlich und weniger deutlich nur bei einzelnen Individuen vorhanden. Die Neissersche Polfärbung nahmen die meisten Stämme mehr oder weniger gut an, sehr spärlich zeigten isolierte Körnchenfärbung die Bacillen der Stämme 20a, 31, 33, 34, 36, 42, 44, nur ganz vereinzelt die Stäbchen der Stammkulturen 39, 41, 11077, 11951, 12094 und 12006. Die Färbung nach Gram wurde bei allen Kulturen, die 24 Stunden auf Blutserum gewachsen waren, in der üblichen Weise vorgenommen. Alle Bakterien von meinen Stämmen, auch die Pseudodiphtheriebacillen, nahmen diese Färbung mehr oder weniger intensiv an. Zwischen den echten und falschen Diphtheriebacillen wurden Unterschiede in bezug auf Färbbarkeit nach Gram nicht beobachtet.

Wachstum auf Blutserum.

Während die meisten Stämme kleine, grauweiß glänzende, erhabene Kolonieen bildeten, zeigten atypisches, gelbes Wachstum 12 Kulturen. Stamm 10 wuchs auf der Serumplatte in großen, erhabenen gelblich glänzenden Kolonieen, die absolut nicht als Diphtheriebacillenkolonieen imponierten und erst mikroskopisch als solche erkannt wurden. Gelbes Wachstum zeigten außerdem noch die Stämme 1, 4, 7, 9, 12, 13, 14, 20a, 35, 36 und 12006. Besonders interessant war die Kultur 20, die nach 24-stündigem Wachstum im Brutschrank zwei verschiedene Arten von Kolonieen aufwies. Die einen waren größer und von zitronengelber Farbe, die anderen kleiner und grauweiß, mikroskopisch zeigten sie ebenfalls Unterschiede, indem die ersteren aus kürzeren, plumpen, nur wenig segmentierten Stäbchen bestanden und als Pseudodiphtheriebacillen erkannt wurden, die letzteren dagegen das typische Bild der echten Diphtheriebacillen zeigten. Beide Arten wurden nun isoliert als 20a- und 20b-Kultur fortgezüchtet. Hervorheben möchte ich noch den Stamm 36, der ebenfalls gelb wuchs und von einem Knaben stammte, der klinisch völlig gesund war, auch früher nie Diphtherie überstanden zu haben behauptete und erst bei Gelegenheit einer Massenuntersuchung im Friedrich-Franz-Hospiz in Müritz als Bacillenträger entdeckt wurde. Mikroskopisch waren Diphtheriebacillen fast in Reinkultur gefunden worden. Die erwähnten 12 gelbgewachsenen Stämme

rührten teils von frisch Erkrankten, teils von Bacillenträgern her, Stamm 12006 allein erwies sich als Pseudodiphtheriestamm.

Wachstum auf anderen Nährböden.

Die Uebertragungen der Stämme auf verschiedene Nährböden wie Agar, Glyzerinagar, Gelatine, Kartoffel, Milch, Bouillon und Ascitesagar ergaben kein brauchbares Resultat zu ihrer Differenzierung, nur die oben beschriebene Kultur 20 wuchs überall in zwei Arten, der mikroskopische Unterschied blieb derselbe. Der gelbe Farbstoff der oben beschriebenen 12 Stämme wurde von diesen nur beim Wachstum auf Blutserum gebildet. Genaue Einzelheiten über das typische Wachstum der Diphtheriebacillen auf diesen Nährböden sind von Slawyk und Manicatide bereits ausführlich beschrieben worden. Da meine Beobachtungen sich mit den ihrigen meist decken, so erübrigt sich eine nochmalige Darstellung der bekannten Tatsachen. Hinzufügen will ich noch, daß auf Ascitesagar sowohl die echten wie die falschen Diphtheriebacillenstämme sehr üppig wuchsen und auch die Polfärbemethode nach Neisser annahmen, allerdings nur vereinzelt die Pseudodiphtheriebacillen.

Pathogenitätsprüfung.

Auf Pathogenität wurden des großen Materials wegen nur gewisse, besonders interessant erscheinende Typen geprüft. Es waren dies Stamm 1, Stamm 9, Stamm 7, Stamm 4 (alle gelb wachsend), Stamm 5 (in großen, grauweißen Kolonieen wachsend), Stamm 11 (grauweiß), Stamm 36 (symptomlos verlaufender Fall von Diphtherie), Stamm 20b und die fünf Pseudostämme 20a, 11077, 11951, 12094, 12006. Die Pathogenitätsprüfung wurde in folgender Weise angestellt: Jedes gesunde Meerschweinchen erhielt pro 100 g seines Gewichtes 0,2 mg Bakterienmaterial, das von einer 24-stündigen Kultur stammte und in 1 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurde, subkutan inijziert. Diese Menge genügte, um mit dem Stamm 5, der von einem frischen sehr schweren Fall herrührte, ein Meerschweinchen in 5 Tagen zu töten. Für die übrigen Stämme benötigte ich 0,3 mg Bakterienmaterial pro 100 g Meerschweinchen, um den Tod der Tiere herbeizuführen. Die Sektion ergab stets die bekannten pathologischen Veränderungen, auch ließen sich jedesmal aus der Impfstelle wiederum Diphtheriebacillen in Reinkultur nachweisen. Von den Pseudostämmen 20a, 11077, 11951, 12094 und 12006 injizierte ich weit größere Mengen. Es wurde ein ganzes Kulturröhrchen des betreffenden Stammes mit 2 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt und einem Meerschweinchen subkutan einverleibt. Selbst nach so hohen Dosen gingen die Tiere nicht zugrunde. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die gelbwachsenden Stämme ebenso pathogen waren wie die grauweißen. Zur Unterscheidung der echten Stämme untereinander ergibt zwar der Tierversuch infolge ihrer Virulenzschwankungen kein sicheres Resulat, dagegen gestattet er stets die Trennung der echten von den falschen Diphtheriebacillen.

Einwirkung auf verschiedene Kohlehydrate resp. hochwertige Alkohole.

Ich versuchte nun durch Uebertragen der Kulturen auf flüssige Nährböden, die verschiedene Zuckerarten enthielten, auf Unterschiede

in dem Zuckerspaltungsvermögen zu fahnden, um eventuell durch diesen Versuch die gelbwachsenden von den grauweißen und diese wiederum von den Pseudostämmen zu trennen.

Die Nährböden hatten nach Thiel folgende Zusammensetzung:

Pepton	1 g
Nutrose	1 „
Kochsalz	0,5 g
Lackmuslösung (Kahlbaum)	5 g
Wasser	100 „
1% kristallinische Sodalösung	2 „

Es wurden sieben Kolben obiger Lösung fertiggestellt und ihnen zugesetzt:

Kolben I:	Traubenzucker	1 g
„ II:	Milchzucker	1 „
„ III:	Fruktose	1 „
„ IV:	Mannose	1 „
„ V:	Inulin	1 „
„ VI:	Mannit	1 „
„ VII:	Dulcit	1 „

Wie aus Tabelle B hervorgeht, wurden von echten Diphtheriebacillen sowohl den gelb- als auch den grauweiß wachsenden Traubenzucker, Fruktose und Mannose, von den Pseudobacillen keine einzige Zuckerart angegriffen, selbst nicht nach achttägiger Beobachtung. Unterschiede in dem Zuckerspaltungsvermögen der gelben und grauweißen Diphtheriestämme konnten nicht festgestellt werden. Daß in allen Nährböden reichliches Wachstum der Diphtheriebacillen in Reinkultur stattgefunden hatte, wurde durch Ausstreichen einer Platinöse der Nährflüssigkeit auf Blutserumplatten stets nachgewiesen. Ein Stamm, der bei dem ersten Versuch den mit Inulin versetzten Nährboden angegriffen hatte, war durch Streptokokken verunreinigt; bei einem nach nochmaliger Isolierung angestellten Kontrollversuch blieb der Nährboden unverändert. Der durch die Säurebildung hervorgerufene Farbenumschlag war bei allen Kulturen gleich, ebenso die Ausfällung

Tabelle

Einwirkung der Diphtheriestämme auf verschiedene

Zusammensetzung des Nährbodens nach Thiel: Pepton (Witte), Nutrose āā 1 g; NaCl

betreffenden

Stämme	Fruktose	Traubenzucker	Mannose
1—50 mit Ausnahme von Stamm 20a	Nach 24 Std.: Farbe rot, gleichmäß Trüb.	Nach 24 Std.: Violettrote Ausfällung, darüber farbl. Flüssigkeit, Bodensatz grauweiß.	Nach 24 Std.: Ganze Säule rot, gleichmäß. Trübung.
	Nach 3 Tagen: Grauweißer Bodensatz, rotviolette Ausfällung, darüber farblose Flüssigkeit.	Nach 3 Tag.: Ebenso.	Nach 3 Tagen: Grauweißer Bodensatz, rotviolette Ausfällung, darüber farbl. Flüssigkeit.
	Nach 8 Tag.: Ebenso.	Nach 8 Tag.: Ebenso.	Nach 8 Tag.: Ebenso.
Pseudostämme, 11 077, 20a, 11 951, 12 094, 12 006	Noch nach 8 Tagen: Unverändert.	Noch nach 8 Tag.: Unverändert.	Noch nach 8 Tagen: Unverändert.

der Nutrose und der Bodensatz. Bei Einwirkung auf Mannose und Fructose zeigte sich gleichmäßige Trübung mit Farbenumschlag in rot, auf dem Traubenzuckernährboden entstand nach 24-stündigem Verweilen im Brutschrank eine violettrote Ausfällung, darüber war klare farblose Flüssigkeit, der Bodensatz war grauweiß.

Gleichfalls sehr schöne Bilder erzielte ich auf festen Zuckernährböden, die folgendermaßen angefertigt wurden:

Zu 100 ccm verflüssigten Agars fügte ich 5 ccm Lackmuslösung (Kahlbaum), 2 ccm Ascitesflüssigkeit und 1 g des betreffenden Kohlehydrates oder hochwertigen Alkoholes. Das Resultat war dasselbe. Die echten gelb oder grauweiß wachsenden Diphtheriebacillen griffen Traubenzucker, Mannose und Fruktose an, sie wuchsen sehr üppig und bewirkten nach 24-stündigem Verweilen im Brutschrank eine vollkommene Rötung der betreffenden Nährböden. Die Pseudostämme dagegen ließen auch bei diesem Versuch alle Nährböden trotz üppigen Wachstums unverändert. Eine einfache Differenzierung der echten und falschen Diphtheriebacillen wurde durch folgenden Versuch ermöglicht:

Es wurden Platten von der oben beschriebenen Zusammensetzung unter Zusatz von Traubenzucker, Mannose und Fruktose gegossen. Sie wurden dann mit einer geringen Menge von Bakterienaufschwemmung, die sowohl echte, wie auch falsche Diphtheriebacillen in Reinkultur enthielt, mittels Platinöse beschickt. Am nächsten Tage sah man sowohl rote als auch blaue Kolonien, die mikroskopisch untersucht stets die Identifizierung der echten und falschen Diphtheriebacillen erlaubten. Die roten Kolonien bestanden stets aus schönen segmentierten, langen Stäbchen, die auch die isolierte Neissersche Polfärbung annahmen, die blauen aus kürzeren, plumpen Stäbchen, deren Pole sich nur sehr spärlich färbten. Diese Differenzierung war also bei Verwendung von Reinkulturen brauchbar, für die Praxis dürfte sie sich aber wegen des Vorhandenseins von anderen Zuckerspaltenden Bakterien in der Mundhöhle nicht eignen.

B.

Zuckerarten bzw. hochwertige Alkohole.

0,5 g; Lackmuslösung (Kahlbaum) 5 g; H_2O 100 g; Sodalösung 1 Proz. 2 g; 1 g der Zuckerart.

Dulcit	Mannit	Laktose	Inulin	Wachstum in Reinkultur
Dauernd unverändert	Dauernd unverändert.	Dauernd unverändert.	Dauernd unverändert.	Auf allen Nährböden nachgewiesen.
Noch nach 8 Tagen: Unveränd.	Noch nach 8 Tagen: Unveränd.	Noch nach 8 Tagen: Unveränd.	Noch nach 8 Tagen: Unveränd.	Reichlich nachgewiesen.

Agglutinationsversuche.

Zur Gewinnung der Immunsera wurden drei Kaninchen je mit einem anderen Stamme immunisiert. Ich wählte dazu Stamm 1, einen Vertreter der gelbwachsenden, Stamm 20b, einen Vertreter der grauweiß wachsenden echten Diphtheriebacillen, und Stamm 11077, den Pseudodiphtheriestamm. Die Tiere, welche durch ihre Farbe leicht zu unterscheiden waren, wurden immer in einem Zwischenraum von 5 Tagen mit 2 ccm einer Bakterienaufschwemmung der betreffenden 24-stündigen Kultur intravenös injiziert. Die ersten beiden Injektionen wurden mit abgetöteten, alle späteren mit lebensfähigen Bakterien ausgeführt. Nach den ersten drei Injektionen wurde den Tieren mittels Herzpunktion je 10 ccm Blut entnommen und nach dem Erkalten zentrifugiert. Die Serumverdünnungen stellte ich nach Analogie der von Pröscher angegebenen Methode zur Austitrierung von Immunserum in der Weise her, daß ich in das erste Röhrchen zu 0,04 ccm Serum 2 ccm Kochsalzlösung hinzufügte, so daß also ein Verdünnungsverhältnis von 1:50 entstand. Von dieser Verdünnung gab ich 1 ccm in ein Reagenzglas, das wie alle übrigen bereits mit 1 ccm Kochsalzlösung beschickt war. Dadurch entstand eine Verdünnung von 1:100. Von diesem Röhrchen wurde wiederum 1 ccm in ein 1 ccm Kochsalzlösung enthaltendes zugefügt, so daß sich ein Verhältnis von 1:200 ergab, usw. Darauf wurden die Serumverdünnungen mit Diphtheriebacillen beschickt, die möglichst gleichmäßig in den einzelnen Röhrchen verrieben wurden. Zur Kontrolle setzte ich gleichzeitig drei Röhrchen, die nur physiologische Kochsalzlösung enthielten, mit dem Bakterienmaterial der drei Stämme an und stellte alle Röhrchen in den Brutschrank. Die nachherige Besichtigung ergab aber, daß die Methode der Bakterienverteilung in den einzelnen Verdünnungen sehr unzuverlässig war, weil sich die Diphtheriebacillen schlecht verreiben ließen und auch in den Reagenzgläsern, die nur Kochsalzlösung und Bakterienmaterial enthielten, ebenfalls Häufchen- und Flockenbildung vorhanden war. Die Resultate dieser Agglutinationsversuche konnten daher nicht verwertet werden. Für die weiteren Agglutinationsversuche stellte ich mir Diphtheriebacillenaufschwemmung mit physiologischer Kochsalzlösung her. Von jedem Stamm wurden 5 Serumkulturen mit je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, die Aufschwemmung 5 Minuten lang zentrifugiert und eventuell noch verdünnt, bis sie gleichmäßig trübe war. Davon wurde jedem die betreffende Serumverdünnung enthaltenden Röhrchen 0,5 ccm zugegeben, so daß ich jetzt folgende Verdünnungen erhielt: 1:75; 1:150; 1:300 usw. Nach 3-stündigem Verweilen im Brutschrank wurden die Röhrchen besichtigt: Serum 1 agglutinierte den homologen Stamm noch in einer Verdünnung von 1:9600, dasselbe war bei Serum 20b mit der homologen Stammkultur der Fall. Der Pseudostamm 11077 wurde von dem homologen Serum noch in einer Verdünnung von 1:19200 agglutiniert.

Um aber noch klarere, völlig einwandfreie Bilder zu erzielen, modifizierte ich den Versuch, nachdem die immunisierten Kaninchen inzwischen zum vierten Male injiziert worden waren, auf folgende Weise: Ich impfte die drei Stämme auf Ascitesagar über, von dem sie sich leichter abschwemmen ließen und eine viel feinere Emulsion ergaben. Auch das üppige Wachstum der Bakterien auf diesem Nähr-

boden kam mir sehr zu statten. Die Abschwemmungen wurden wiederum zentrifugiert und dann noch, um möglichst alle Bakterienhaufen zu entfernen, durch ein quantitatives Filter geschickt. Den Serumverdünnungen wurde 0,5 ccm dieser Aufschwemmung zugefügt und die betreffenden Röhrchen auf 3 Stunden in den Brutschrank gestellt. Es zeigte sich nun, daß die drei Sera ihre homologen Bakterien in gleicher Weise noch in einer Verdünnung von 1:9600 agglutinierten. In den Kontrollröhrchen, welche nur Kochsalzlösung und die Bakterienaufschwemmung enthielten, war keine Zusammenballung zu Häufchen erkennbar. Die weiteren Untersuchungen der Einwirkung der drei Immunsera auf andersartige Stämme ergaben, daß Serum 1 die Bakterien von Stamm 20b in einer Verdünnung von 1:9600, also bis zur Titergrenze agglutinierte, ebenso Serum 20b die Bakterien von Stamm 1. Das Immunserum 11077 agglutinierte die Bacillen von Stamm 1 in 150-facher Verdünnung schwach, desgleichen die Bacillen von Stamm 20b. Genauere Einzelheiten illustriert die Tabelle C. Danach verhielten sich der gelbwachsende Stamm 1 und der grauweiße Stamm 20b vollkommen gleich untereinander, d. h. sie wurden sowohl von dem homologen als auch von dem heterologen Serum der mit echter Diphtherie immunisierten Tiere gleich hoch agglutiniert; die Versuchsergebnisse mit dem Pseudostamm 11077 beweisen seine Artverschiedenheit.

Tabelle C.

Agglutinationsversuche.

Serumverdünnung		1:75	1:150	1:300	1:600	1:1200	1:2400	1:4800	1:9600	1:19200
					1. Stammkultur I.					
Kan.-Immunser.	I	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„	20b	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„	11077	+	+	—	—	—	—	—	—	—
					2. Stammkultur 20b.					
Kan.-Immunser.	20b	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„	I	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„	11077	+	+	—	—	—	—	—	—	—
					3. Stammkultur 11077 (Pseudodiphtheriestamm).					
Kan.-Immunser.	11077	+	+	+	+	+	+	+	+	—
„	I	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„	20b	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Komplementbindung.

Zum Komplementbindungsverfahren wurden Bakterienextrakte benutzt, welche durch Abschwemmung von 24-stündigen Serumkulturen mit Kochsalzlösung, 1-stündiger Abtötung bei 60° und 3mal 24-stündigem Mazerieren im Brutschrank bei 37° erhalten worden waren. Die Bakterienextrakte stammten von den drei verschiedenen Stämmen, die ich als Vertreter der Typen schon zu den Agglutinationsversuchen benutzt hatte. Es sollte sowohl die Identität des gelb und des grauweiß wachsenden als auch die Artverschiedenheit des Pseudostammes mit dieser Methode nochmals nachgewiesen werden. Das Serum stammte von Kaninchen, die drei intravenöse Injektionen von Bakterienaufschwemmungen erhalten hatten. 6 Tage nach der letzten Injektion

wurde jedem Tier ca. 10—12 ccm Blut mittels Herzpunktion entnommen und die gewonnenen Sera bei 56° eine halbe Stunde lang inaktiviert.

Zunächst wurde die Brauchbarkeit und der Titer des Antigens bestimmt. Dies geschah in der Weise, daß von den Bakterienextrakten je 1 ccm in das erste Röhrchen gegeben wurde. Die übrigen Röhrchen enthielten 0,8, 0,5 0,4, 0,3, 0,2 Antigen und wurden sämtlich mit Kochsalzlösung aufgefüllt, bis ein jedes 1 ccm Flüssigkeit enthielt. Darauf wurde jedem der Röhrchen 1 ccm Komplementlösung = 0,1 ccm Meerschweinchenserum in 1 ccm Kochsalzlösung zugegeben, die Flüssigkeit geschüttelt und auf 1 Stunde in den Brutschrank gestellt. Gleichzeitig wurde das hämolytische System hergestellt. Die Hammelblutkörperchenaufschwemmung gebrauchte ich wie üblich in 5-proz. Lösung. Der im Institut vorrätige Ambozeptor wirkt in einer Verdünnung von 1:1000 hämolytisch, ich wandte ihn also nach Vorschrift in der Verdünnung von 1:500 an. Von diesen beiden Lösungen wurden gleiche Teile gemischt und zur Sensibilisierung auf 1 Stunde in den Brutschrank gestellt. Zum Nachweise der Brauchbarkeit meiner Kochsalzlösung und des hämolytischen Systems setzte ich folgende Kontrollen an:

1) Zu 4 ccm Kochsalzlösung gab ich 1 ccm der 5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung.

2) Je 1 ccm Ambozeptorlösung, Hammelblutkörperchenaufschwemmung und Komplementlösung wurden zusammengemischt und 2 ccm Kochsalzlösung zugesetzt, um in allen Röhrchen die gleichen Mengen zu haben. Diese Kontrollen kamen gleichzeitig mit der anderen Versuchsreihe in den Brutschrank. Nach 1-stündigem Verweilen in demselben wurden sie besichtigt, wobei sich die Brauchbarkeit meiner Reagentien zeigte. Im Röhrchen 1 war die obere Hälfte der Flüssigkeit klar, die Blutkörperchen waren nicht angegriffen, im Kontrollröhrchen 2 war dagegen völlige Hämolyse eingetreten. Nun wurden zu den übrigen Röhrchen der Versuchsreihe je 2 ccm des sensibilisierten hämolytischen Systems zugegeben, kräftig geschüttelt und in den Brutschrank gestellt. Die nach 3 Stunden erfolgte Beurteilung der Reaktionen ergab: 1 ccm Antigen ohne Serumzusatz veranlaßte leichte Hemmung, während in den 0,8 ccm Antigen enthaltenden Röhrchen völlige Hämolyse eingetreten war. Somit war die Brauchbarkeit der Antigene in einer Menge von 0,4 ccm erwiesen.

Der folgende Versuch wurde in gleicher Weise angesetzt, nur, daß den Röhrchen noch je 1 ccm einer Verdünnung des inaktivierten homologen Immunserums hinzugefügt wurde, in der Weise, daß jeder Kubikzentimeter 0,2 ccm Serum enthielt. Ich füge der Uebersichtlichkeit halber nebenstehende Tabellen bei.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Immunsera von Stamm 1 und 20b zusammen mit den homologen Antigenen vollkommene Bindung geben. Was den Stamm 11077 anbetrifft, so konnte trotz der Verwendung des hochwertigen Immunserums und obgleich das Antigen ganz analog den beiden anderen hergestellt war, die Bindung des Komplementes nicht erzielt werden. Die Gründe, weswegen bei diesem Stamme die Komplementbindung ausblieb, habe ich trotz wiederholter Versuche nicht aufklären können. Nachprüfungen ergaben stets dasselbe Resultat. Letzteres ist um so auffallender, als meine Agglutinationsversuche das Vorhandensein von Agglutininen im Serum er-

wiesen hatten, eine Antikörperbildung nach den Injektionen also aufgetreten war.

Mein letzter Versuch sollte den gelben Stamm 1 und den grauweiß wachsenden Stamm 20b auf ihre Identität prüfen und die Artverschiedenheit des Pseudostammes 11077 dartun. Zu diesem Zwecke waren folgende Versuchsreihen nötig: Einwirkung 1) des Antigens Stamm 1 auf Serum 20b; 2) des Antigens Stamm 1 auf Serum 11077; 3) des Antigens Stamm 20b auf Serum 1; 4) des Antigens Stamm 20b auf Serum 11077; 5) des Antigens Stamm 11077 auf Serum Stamm 1; 6) des Antigens Stamm 11077 auf Serum Stamm 20b.

Da das Antigen 11077 schon mit dem homologen Serum keine Bindung gegeben hatte, so war zu erwarten, daß es in der Menge von 0,4 ccm auch mit den übrigen beiden Sera Hämolyse hervorrufen würde. In der Menge von 1 ccm war es nicht verwertbar, da es in diesem Falle auch ohne Serumzusatz leichte Bindung verursacht hatte. Der Ausfall des Versuches bestätigte denn auch diese Ueberlegung: Antigen 11077 bewirkte sowohl mit Serum 1 als auch mit Serum 20b Hämolyse. Auch hatten die brauchbaren Antigene Stamm 1 und 20b mit dem Pseudoserum Stamm 11077 vollständige Lösung hervorgerufen. Damit war die Artverschiedenheit des Pseudostammes nachgewiesen. Antigen Stamm 1 gab mit dem Kaninchenimmunserum Stamm 20b komplette Bindung, desgleichen Antigen Stamm 20b mit dem Kaninchenimmunserum Stamm 1. Damit war die Identität des gelben und des grauweißen Stammes erwiesen (s. Tabelle D, E).

Zum Schlusse will ich noch erwähnen, daß die Farbe des auf Blutserum anfangs grauweiß gewachsenen Stammes 20b nach häufigem Ueberimpfen zuweilen auch gelb wurde. Da ich der Meinung war, daß die Farbstoffbildung vielleicht von dem Säure- oder Alkaligehalte

Tabelle D.

Versuchsreihe mit Antigen St. I und Immunserum I.

Antigen in 1 ccm enthalten	Inaktiviertes Serum	Komplement 1:10	Ambozeptor 1:500	5-proz. Hammelblutkörperchen	Befund nach 3 Std. bei 37° C
0,4	Normalser. 0,2	1 ccm	1 ccm	1 ccm	Vollst. Hämolyse
0,8	—	1 „	1 „	1 „	dgl.
0,4	0,2	1 „	1 „	1 „	Kompl. Bindung
0,2[1])	0,1	1 „	1 „	1 „	dgl.
—	0,4	1 „	1 „	1 „	Vollst. Hämolyse
		2. Antigen 20b und Immunserum 20b.			
0,4	Normalser. 0,2	1 ccm	1 ccm	1 ccm	Vollst. Hämolyse
0,8	—	1 „	1 „	1 „	dgl.
0,4	0,2	1 „	1 „	1 „	Kompl. Bindung
0,2[1])	0,1	1 „	1 „	1 „	dgl.
—	0,4	1 „	1 „	1 „	Vollst. Hämolyse
		3. Antigen 11077 und Immunserum 11077.			
0,4	Normalser. 0,2	1 ccm	1 ccm	1 ccm	Vollst. Hämolyse
0,8	—	1 „	1 „	1 „	dgl.
0,4	0,2	1 „	1 „	1 „	„
0,2[1])	0,1	1 „	1 „	1 „	„
—	0,4	1 „	1 „	1 „	„

1) Diesem Röhrchen wurde, um überall gleiche Mengen zu erhalten, noch 1 ccm NaCl-Lösung hinzugefügt.

Tabelle E.

Versuchsreihe mit Antigen St. I (gelbwachsender Diphtheriestamm).

1. Kaninchenserum 20b.

Antigen I in 1 ccm enthaltend	Inaktiviertes Immunserum 20b	Komplement 1:10	Ambozeptor 1:500	5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Befund nach 3 Std. bei 37° C
0,4	0,2	1 ccm	1 ccm	1 ccm	Kompl. Bindung
0,2	0,1	1 „	1 „	1 „	dgl.
—	0,4	1 „	1 „	1 „	Hämolyse

2. Kaninchenserum 11 077.

Antigen I in 1 ccm enthaltend	Inaktiviertes Immunserum 11 077	Komplement 1:10	Ambozeptor 1:500	5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Befund nach 3 Std. bei 37° C
0,4	0,2	1 ccm	1 ccm	1 ccm	Kompl. Hämol.
0,2	0,1	1 „	1 „	1 „	dgl.
—	0,4	1 „	1 „	1 „	„

Versuchsreihe mit Antigen 20b (grauweiß wachsender Stamm).

1. Kaninchenserum I.

Antigen 20b in 1 ccm enthalten	Inaktiviertes Immunserum I	Komplement 1:10	Ambozeptor 1:500	5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung	Befund nach 3 Std. bei 37° C
0,4	0,2	1 ccm	1 ccm	1 ccm	Kompl. Bindung
0,2	0,1	1 „	1 „	1 „	dgl.
—	0,4	1 „	1 „	1 „	Völl. Hämolyse

2. Kaninchenserum 11 077.

Antigen 20b in 1 ccm enthalten	Inaktiviertes Immunserum 11 077	Komplement 1:10	Ambozeptor 1:500	5-proz. Hammelblutkörperchen aufschwemmung	Befund nach 3 Std. bei 30° C
0,4	0,2	1 ccm	1 ccm	1 ccm	Völl. Hämolyse
0,2	0,1	1 „	1 „	1 „	dgl.
—	0,4	1 „	1 „	1 „	„

des Nährbodens abhängen könnte, so goß ich verschiedene Platten mit Loeffler-Serum aus, dem ich teilweise Essigsäure, teilweise Sodalösung zugab. Die Austitrierung der hier allgemein für die Herstellung des Loefflerschen Serums benutzten Bouillon mit Phenolphthalein als Indikator ergab einen Säuregrad von 1,05 Normalsalzsäure, die der mit Essigsäure angesäuerten einen Säuregrad von 2. Bei der Titration der mit konzentrierter Sodalösung alkalisierten Bouillon wurden auf 100 ccm Bouillon 6 ccm einer $^1/_2$ Normalsalzsäure verbraucht. Auf diese verschieden reagierenden Nährböden wurden die drei Stämme 1, 20b und 11077 ausgestrichen. Die Besichtigung der Platten nach 24- und 48-stündigem Verweilen im Brutschrank bei 37° ergab folgendes Resultat: Die beiden echten Diphtheriestämme wuchsen auf allen Platten gelb, der Pseudostamm grau, allerdings hatte Stamm 20b in der letzten Zeit meiner Beobachtung ebenfalls einen gelben Farbenton angenommen. Auf dem sauren Nährboden wurde stets ein reichlicheres Wachstum beobachtet. Der Säure- resp. Alkaligehalt des Nährbodens hat also auf die Farbenunterschiede zwischen den beiden anfangs verschieden gewachsenen Stämmen 1 und 20b keinen Einfluß ausgeübt.

Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse.

Bezüglich der Gestalt der echten Diphtheriebacillen hat sich folgendes ergeben: Wenn auch, was Größe, Länge und Segmentierung anbetrifft, individuelle Unterschiede vorhanden sind, so wären sie doch nicht derart, daß man eine Trennung in verschiedene Arten hätte vornehmen können. Im Gegensatz dazu zeigten die Pseudodiphtheriebacillen eine deutlich abweichende Form, sie waren stets an ihrer plumperen Gestalt, ihrer Kürze und der mangelhaften Segmentierung zu erkennen, wenn auch zugegeben werden muß, daß Uebergänge zu der Form der echten Diphtheriebacillen zur Beobachtung kamen. Hervorheben will ich noch, daß die Vergleichung der Gestalt der Bakterien immer nur bei Kulturen vorgenommen wurde, welche auf einem Nährboden von gleicher Zusammensetzung gezüchtet waren. Auch durch wiederholte Uebertragungen auf andere Nährböden und längeres Fortzüchten konnten wesentliche Veränderungen in der Form der Bacillen nicht hervorgerufen werden, vorausgesetzt natürlich, daß der Nährboden in Zusammensetzung und Reaktion immer gleich war. Auch die Form der gelb wachsenden, echten Diphtheriestämme stimmte mit den grauweißen vollkommen überein. Echte Verzweigungen der Bakterien, wie Klein sie beschrieben hatte, wurden nicht beobachtet. Die Polfärbung nach der neuen Neisserschen Methode wurde von den grauweiß und den gelb wachsenden Diphtheriebacillen gleich gut angenommen, bei den Pseudodiphtheriebacillen war sie zwar auch vorhanden, wurde jedoch nur immer bei vereinzelten Individuen erzielt.

Hinsichtlich des Wachstums auf gewöhnlichem Loefflerschen Serum zeigten sich bei den einzelnen Stämmen doch bemerkenswerte Unterschiede: Während in Lehrbüchern allein die grauweiße Farbe der Diphtheriebacillenkolonien als typisch hingestellt wird, beobachtete ich bei 12 meiner 55 Kulturen die Bildung von zitronengelbem Farbstoff, welcher schon nach 24 Stunden gleich nach der Gewinnung von Mandelabstrichen erkennbar war. Wie in der Einleitung bereits erwähnt, ist über dieses Vorkommnis schon von Zupnik und Fraenkel berichtet worden, doch betont letzterer, daß er selten und immer erst nach einigen Tagen bei der betreffenden Kultur auftrete.

Eine Erklärung für die Farbstoffbildung konnte nicht gegeben werden, jedenfalls hatte die Reaktion des Nährbodens, gleichgültig ob er schwach sauer, sauer oder alkalisch war, darauf keinen Einfluß. Höchtwahrscheinlich ist die Ursache in einer besonderen Beschaffenheit des Blutserums zu suchen. Auf saurem Loefflerschen Serum wuchsen alle Stämme üppiger, am besten auf Ascitesagar.

Koagulation der Milch wurde von keinem Stamm hervorgerufen.

Als virulent für Meerschweinchen erwiesen sich nur die echten Diphtheriestämme; selbst durch große Mengen von Pseudodiphtherie-

bacillen konnte weder der Tod der Tiere noch auch nur lokale Krankheitserscheinungen erzeugt werden.

Die Prüfung der Einwirkung auf verschiedene Zuckerarten dagegen ermöglichte stets eine Differenzierung der echten und falschen Stämme, dagegen keine der grauweiß und gelbwachsenden echten Diphtheriebacillen. Alle echten Diphtheriekulturen griffen Traubenzucker, Fruchtzucker und Mannose an, die falschen nie.

Bei Mischinfektionen mit echten und Pseudodiphtheriebacillen konnte ihre Identifizierung durch Uebertragung auf Platten, welche eine der drei Zuckerarten enthielten, vorgenommen werden. Am sichersten gelang die Unterscheidung mittels der Agglutinations- und Komplementbindungsmethode.

Durch die letzten drei Untersuchungsarten konnte einerseits die Identität der gelb resp. grauweiß wachsenden echten Diphtheriestämme, andererseits die Artverschiedenheit der avirulenten Pseudostämme einwandfrei bewiesen werden.

Zum Schluß gestatte ich mir, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. L. Pfeiffer, für die Anregung zu dieser Arbeit, Herrn Privatdozenten Dr. Riemer für seine Unterstützung bei den Untersuchungen meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

1) Klein, Ueber verzweigte Diphtheriebacillen.
2) Fraenkel, C., Die Unterscheidung der echten und der falschen Diphtheriebacillen. (Berlin. klin. Wochenschr. Jahrg. 43. 1897. p. 1087.)
3) Zupnik, Leo, Varietäten der Diphtheriebacillen. (Berlin. klin. Wochenschr., 1897. p. 50.)
4) Loeffler, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. p. 105.
5) Escherich, Berlin. klin. Wochenschr. 1893. Nr. 21.
6) Roux u. Yersin, Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1894. p. 414.
7) Zarniko, ebenda, Bd. 4, p. 228.
8) Spronck, Annal. Pasteur. 1895.
9) van Turenhout, [Inaug.-Dissert.]. Utrecht 1895.
10) Peters, Ueber das Verhältnis der Xerosebacillen zu den Diphtheriebacillen, nebst Bemerkungen über die Conjunctivitis crouposa. (Dtsche med. Wochenschrift. 1897. p. 133.)
11) Cobbett, Annal. Pasteur. 1897. p. 250.
12) Madsen, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 26. 1897. p. 157.
13) Kolle-Wassermann, Die pathogenen Mikroorganismen.
14) Slawyk u. Manicatide, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 29. 1898. p. 181.
15) Lubowski, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900. p. 92 ff.
16) Lipstein, A., Dtsche med. Wochenschr. 1902. p. 821 ff. u. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 421 ff.
17) Schwooner, Wien. klin. Wochenschr. 1902.
18) Wassermann, Dtsche med. Wochenschr. 1902. No. 44.

Sonstige Literatur:

Klein, Hyg. Rundschau. Bd. 13. 1903. p. 1234.
Abbot, A. C., and Gilderslewe, N., On the branshing forms occasionally exhibited by Bacillus diphtheriae. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 35. p. 273.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4122

Lebenslauf.

Ich, Witold v. Przewoski, wurde am 18. Januar 1887 in Schwetz a. d. Weichsel als Sohn des Arztes Dr. v. Przewoski geboren. Nachdem ich das Progymnasium in meiner Heimatstadt bis Untersekunda einschließlich, dann das Gymnasium in Marienwerder bis zur Maturitätsprüfung besucht hatte, wandte ich mich in Leipzig dem Studium der Medizin zu. Nach zweisemestrigem Aufenthalt daselbst studierte ich weiter ein Semester in Königsberg, zwei in München und die übrige Zeit in Rostock. Hier bestand ich die ärztliche Vorprüfung und im Frühjahr des Jahres 1911 das medizinische Staatsexamen. Vom 1. Juli d. J. bis Ende Oktober war ich an der bakteriologischen Abteilung des hiesigen hygienischen Institutes als Medizinalpraktikant tätig.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4122